



(19) BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

(12) **Offenlegungsschrift**  
(10) **DE 199 30 111 A 1**

(21) Aktenzeichen: 199 30 111.5  
(22) Anmeldetag: 1. 7. 1999  
(43) Offenlegungstag: 4. 1. 2001

(51) Int. Cl. 7:  
**C 07 D 493/04**

C 07 D 417/06  
A 61 K 31/425  
// (C07D 493/04,  
313:00,303:00)(C07D  
417/04,313:00,277:20)

**DE 199 30 111 A 1**

(71) Anmelder:

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH  
(GBF), 38124 Braunschweig, DE

(74) Vertreter:

Patentanwälte Dr. Boeters, Bauer, Dr. Forstmeyer,  
81541 München

(72) Erfinder:

Höfle, G., Prof. Dr., 38124 Braunschweig, DE;  
Glaser, Nicole, 38124 Braunschweig, DE; Leibold, ..  
Dr., 38124 Braunschweig, DE

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

(54) C-21 Modifizierte Epothilone

**DE 199 30 111 A 1**

**BEST AVAILABLE COPY**

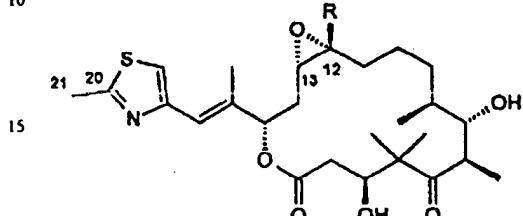
# DE 199 30 111 A 1

## Beschreibung

### Hintergrund der Erfindung

5 Epothilone sind makrocyclische Lactone mit nützlichen antifungischen und cytotoxischen Eigenschaften. Ihre Wirkung beruht wie bei Taxol® auf einer Stabilisierung der Microtubuli in deren Folge insbesondere Tumor- und andere sich rasch teilende Zellen gehemmt werden. Typische Epothilone tragen eine Methylthiazolyl-Seitenkette, eine 12,13-Doppelbindung (C, D), ein 12,13-Epoxid (A, B) und an C-12 ein Proton (A, C) oder eine Methylgruppe (B, D), vergleiche z. B.: Review Angew. Chem. 1998, 110, 2120-2153.

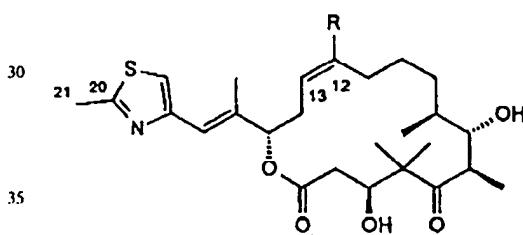
10



20

Epothilon A, R = H  
B, R = Me

25



40

Epothilon C, R = H  
D, R = Me

### Gegenstand der Erfindung

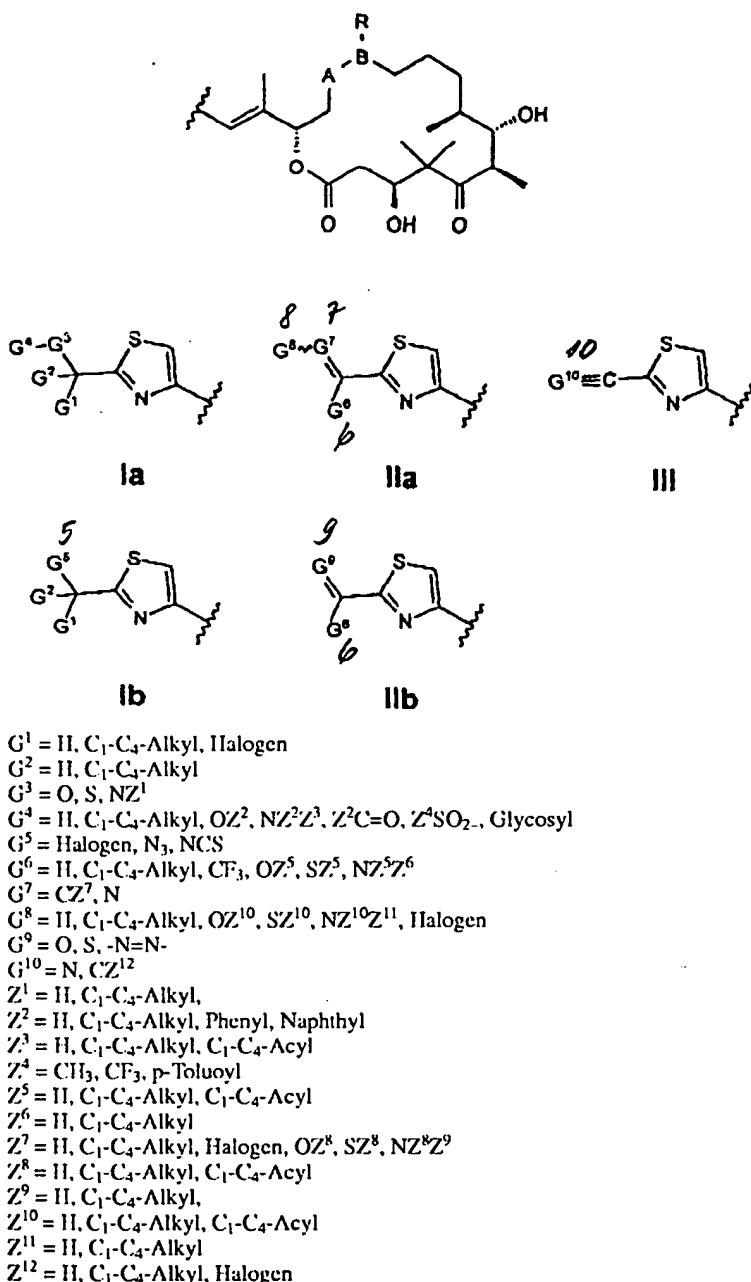
45 Gegenstand der Erfindung sind Epothilon-Derivate I-III, in denen die Wasserstoff-Atome der C-21 Methylgruppe teilweise oder vollständig durch andere Gruppen G1 bis G10 substituiert sind. Dabei kann R ein Wasserstoff oder Methyl, A-B eine C,C-Doppelbindung oder ein Epoxid sein.

50

55

60

65

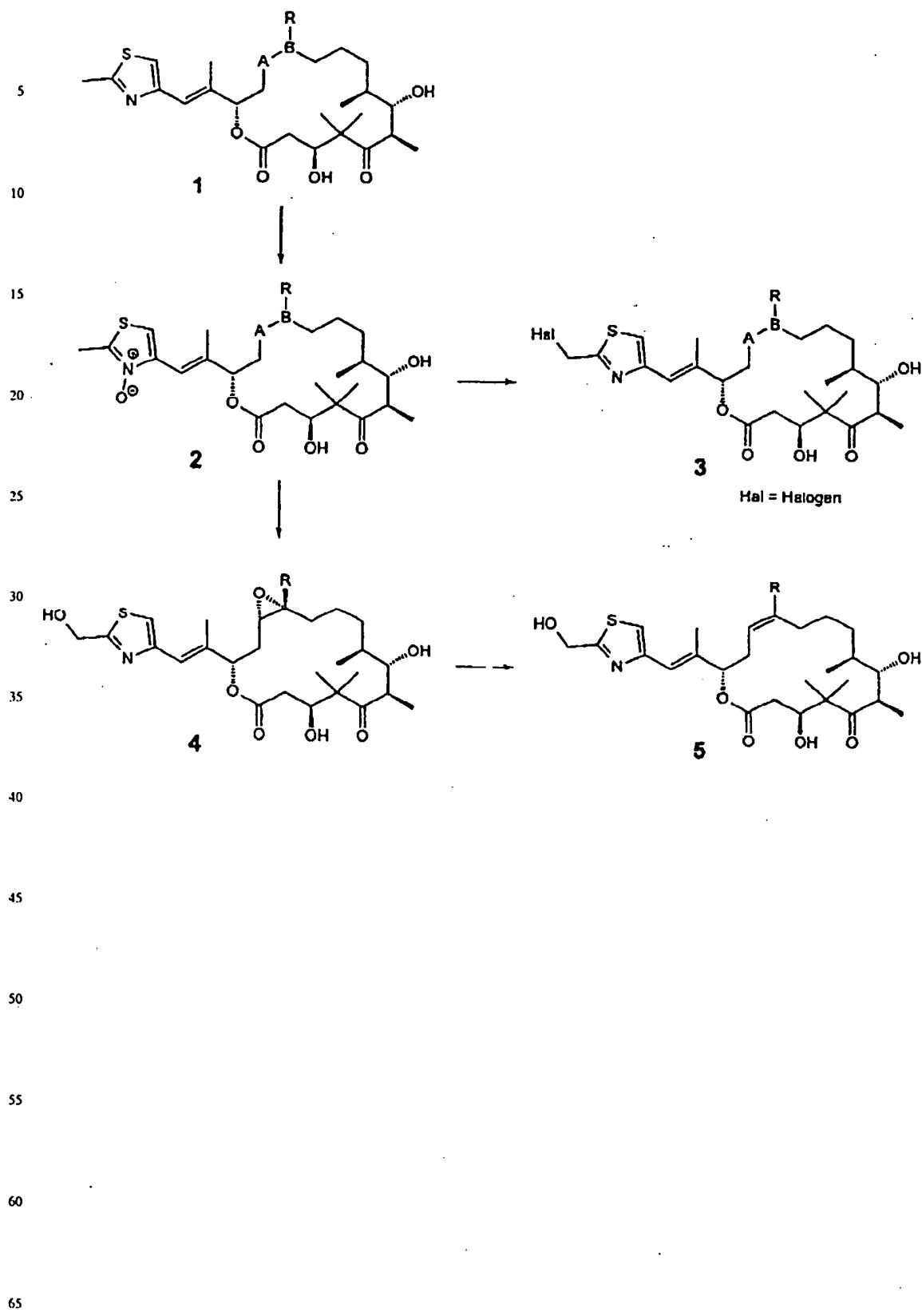


## Funktionalisierung von C-21

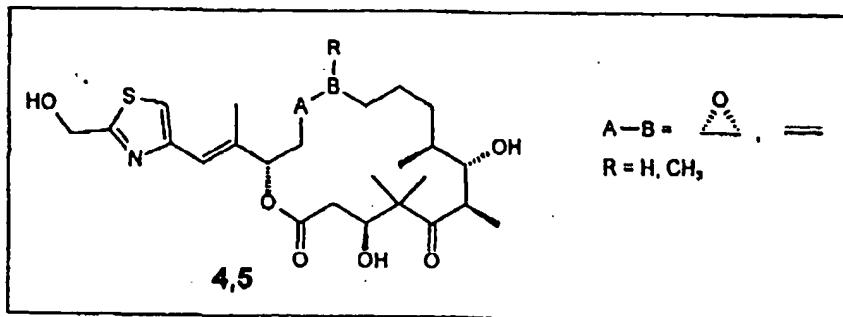
Ausgehend von ungeschützten 3,7-Hydroxy oder z. B. TMS-geschützten Epothilonen A-C (1) können über die N-Oxide 2 die 21-Hydroxyepothilone 4 erhalten werden (WO 98/38 192)). Die N-Oxide 2 ergeben bei der Umsetzung mit Säurehalogeniden und Basen, bevorzugt *p*-Toluolsulfonsäurehalogeniden und 2,6-Lutidin die 21-Halogeneponthilone 3. Desoxygenierung der Epoxide 4 nach bekannten Methoden liefert die 21-Hydroxyepothilone C und D (5).

Alternativ können 4 und 5 durch Biotransformation (21-Hydroxylierung) von Epothilonen A-D mit Hilfe von z. B. *Sorangium cellulosum* Stämmen (WO 98/22 461) erhalten werden. Die 3,7-OH geschützten oder nicht geschützten Epothilone 3, 4, 5 (vgl. WO 97/19 086) dienen im folgenden zur Herstellung der Derivate vom Strukturtyp I-III.

DE 199 30 111 A 1



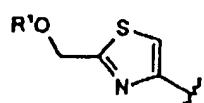
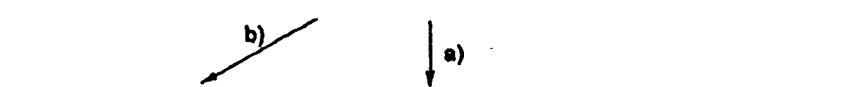
DE 199 30 111 A 1



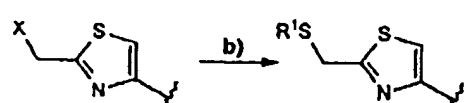
5

10

15



6  $R'$  = Alkyl, Acyl



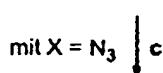
3  $X$  = Halogen

7  $X$  =  $N_3$ ,  $N=C=S$ ,  $SH$

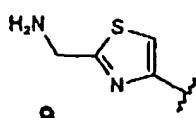
8  $R'$  = Alkyl, Acyl

20

25

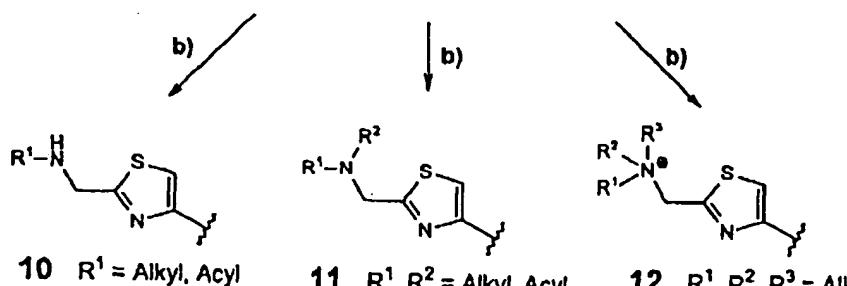


30



9

35



40

45

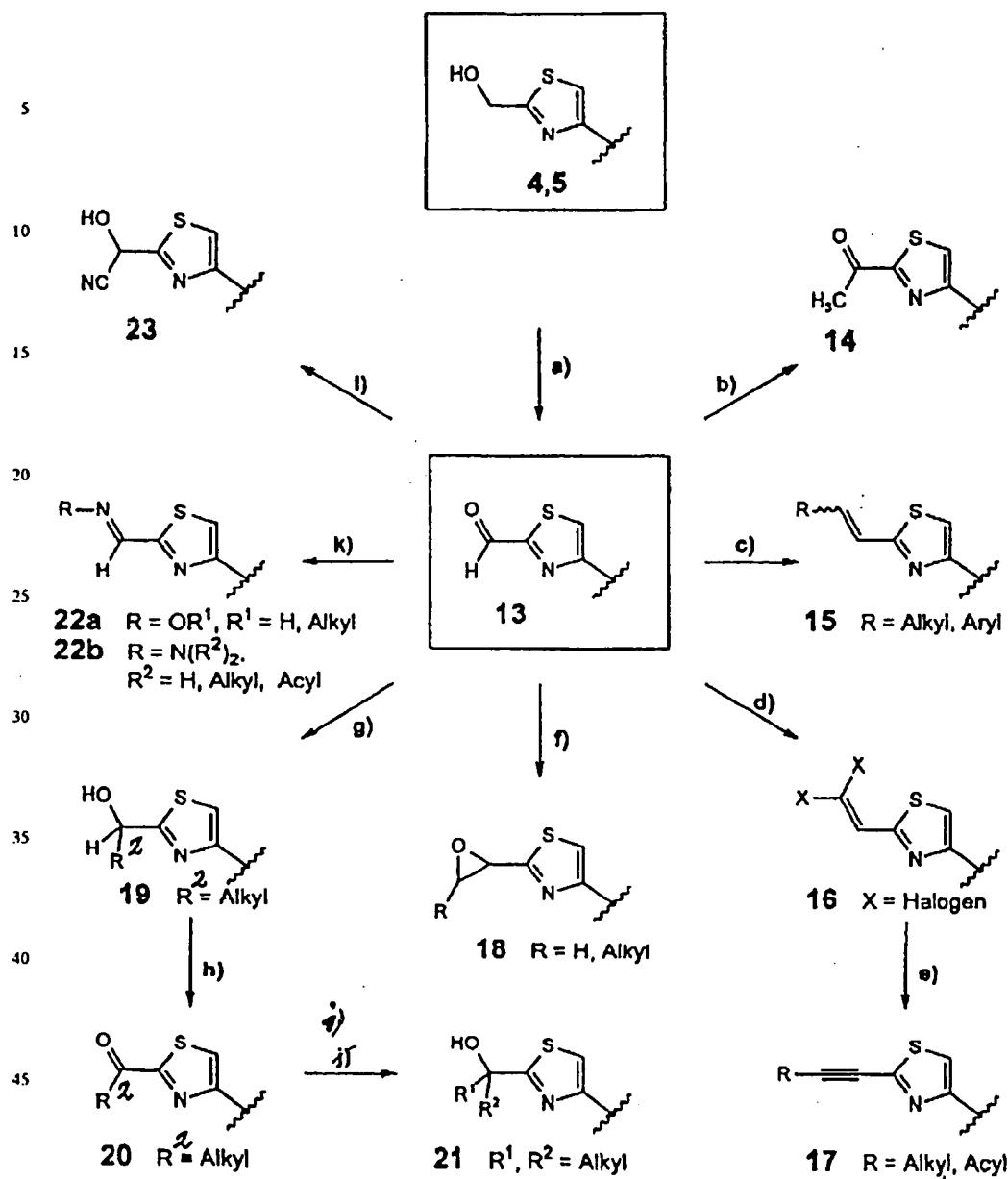
50

a) i) Aktivierung z.B. TosX, Pyridin; ii) Substitution z.B.  $NaN_3$   
b)  $R^1Hal$ , Base; c) Lindlar-Kat.,  $H_2$ ,  $EtOH$ .

55

60

65



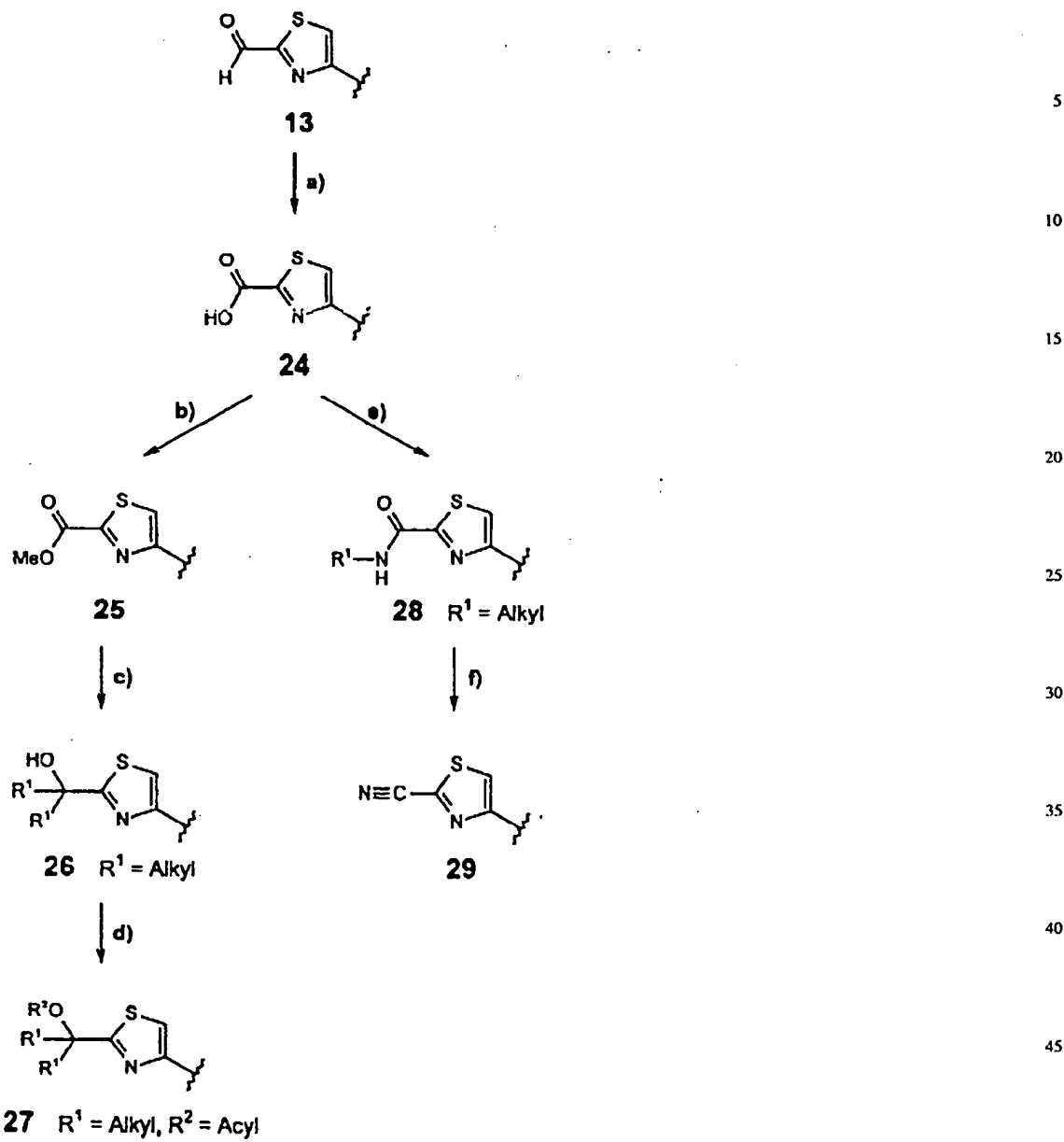
a) MnO<sub>2</sub>; b) CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>; c) Wittig oder analoge Reaktion; d) CrCl<sub>2</sub>, CHX<sub>3</sub>; e) BuLi, RX;  
f) Me<sub>2</sub>SOCH<sub>2</sub>; g) RMgX or RLi; h) MnO<sub>2</sub>; i) R<sup>1</sup>MgX oder R<sup>1</sup>Li; k) H<sub>2</sub>N-R; l) HCN

55

60

65

DE 199 30 111 A 1



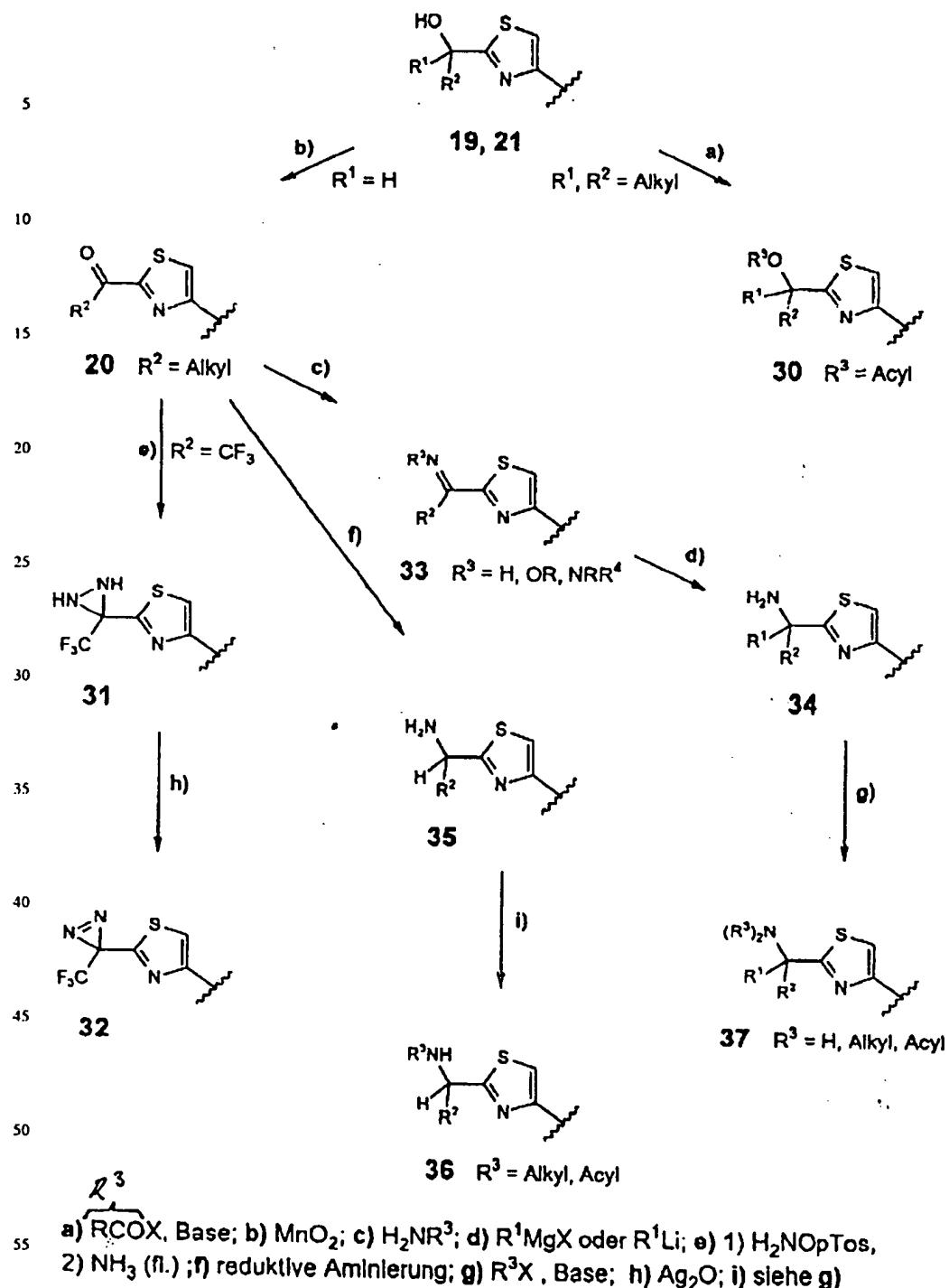
a) THF/H<sub>2</sub>O 9:1, Ag<sub>2</sub>O; b) CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, Ethylacetat; c) xs R<sup>1</sup>MgHal  
 d) R<sup>2</sup>Hal, Base; e) Chlorformiat, Et<sub>3</sub>N, R<sup>1</sup>NH<sub>2</sub>, THF; f) P<sub>4</sub>O<sub>10</sub>

55

60

65

DE 199 30 111 A 1

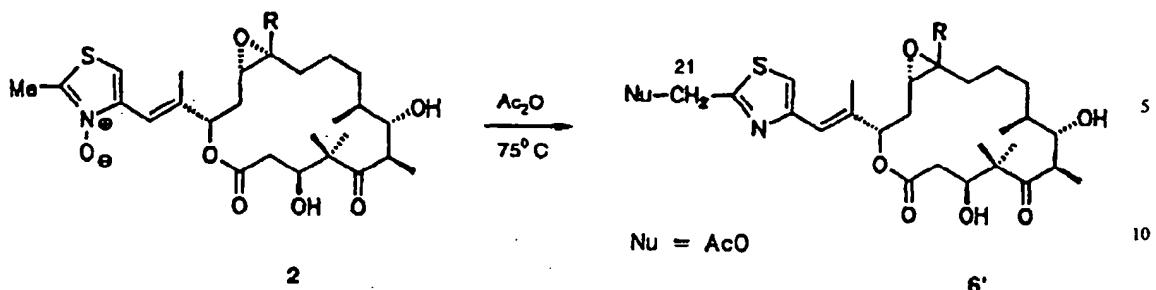


## Herstellung und Umwandlung von N-Acylepothilon-N-oxiden

Hintergrund der Erfindung

In PCT/EP 98/01 060 haben wir die Herstellung von Epothilon-N-oxiden (2) und ihre Umlagerung in 21-Acyloxyepothilon(6') beschrieben:

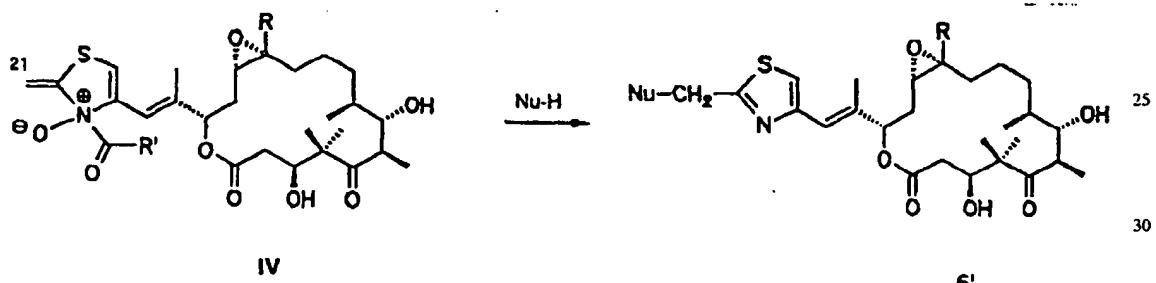
DE 199 30 111 A 1



Die Ester 6' sind wertvolle Zwischenprodukte für eine Vielzahl von C-21 weitergehend modifizierten Epothilonen.

## Beschreibung der Erfindung

Bei der Umsetzung von 2 mit z. B. Acetanhydrid kann nach kurzer Reaktionszeit eine neue unerwartete Zwischenstufe IV beobachtet werden, die bei längerer Reaktionszeit vollständig in 6' übergeht. Unterbricht man die Reaktion zum rechten Zeitpunkt, so kann IV in Form von zwei Diastereomeren IVa und IVb chromatographisch isoliert werden.



$R = H, CH_3$

R' = Alkyl C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, Fluoralkyl C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, Aryl, OAalkyl, N(Alkyl-H)

Verbindungen des Typs IV sind bisher nicht bekannt. Die Struktur leitet sich eindeutig von den spektroskopischen Daten und den Folgeraktionen ab.

Präparativ besonders wertvoll ist die Umsetzung mit Nukleophilen, die zu C-21 substituierten Epothilonon 6' mit z. B. Kohlenstoff-, Stickstoff-, Sauerstoff-, Schwefel- und Halogensubstituenten Nu führt.

## Synthese von 21-Amino-Epothilopen 9

Beispiel: 21-Amino-Epothilon B ( $\text{R}=\text{CH}_2$ ;  $\text{G}^1=\text{G}^2=\text{G}^4=\text{Z}^1=\text{H}$ ;  $\text{G}^3=\text{NZ}^1$ ) in Formel 1a

18.0 mg Lindlar-Katalysator werden unter  $\text{H}_2$ -Atmosphäre in 500  $\mu\text{l}$  Ethanol suspendiert und abgesättigt. Es werden dann 15.9 mg (29.0  $\mu\text{mol}$ ) 21-Azido-Epothilon B, gelöst in einem Ethanol-Methanol-Gemisch, zugegeben. Nachdem 30 min bei Raumtemperatur gerührt wurde, wird die Suspension über Celite filtriert und mit Ethylacetat nachgespült. Die organische Phase wird vom Lösungsmittel befreit und am Hochvakuum getrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt über PSC (Laufmittel:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Methanol}$  90 : 10), wobei 12.3 mg (81%) 21-Amine-Epothilon B und 1 mg (6%) Edukt erhalten wurden.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.58 (bs, 17-H), 7.05 (s, 19-H), 4.15 (s, 21-H<sub>2</sub>); HRMS (DCI): C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S: [M+H<sup>+</sup>] ber. 522.2764, gef. 522.2772.

## Synthese der 21-Azido-Epothilone 7

Beispiel: 21-Azido-Lipothilin B ( $R=CH_3$ ,  $G^1=G^2=H$ ,  $G^5=N_3$ ) der Formel Ib

In eine Lösung von 32.6 mg (62.3 µmol) Epothilon F in 400 µl DMF werden 20.2 µl (93.5 µmol) Diphenylphosphorylazid und 16.7 µl (112.2 µmol) DBU gegeben. Es wird 30 min bei 50°C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Hochvakuum abgezogen. Die Reinigung erfolgt über präparative HPLC (Laufmittel: MTBE/Hexan 1 : 2 + 1% Methanol), wobei 20.3 mg (60%) 21-Azido-Epothilon B erhalten wurden.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.59 (bs, 17-H), 7.04 (s, 19-H), 4.63 (s, 21-H<sub>2</sub>); HRMS (DCI): C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S; [M<sup>+</sup>] ber. 549.2747, ref. 549.2768.

# DE 199 30 111 A 1

## Synthese von 21-Acylamino-Epothilonen 10

Beispiel: 21-n-Propionylamino-Epothilon A (R=H, G<sup>1</sup>=G<sup>2</sup>=H, G<sup>3</sup>=NZ<sup>1</sup>, Z<sup>1</sup>=H, G<sup>4</sup>=Z<sup>2</sup>C=O, Z<sup>2</sup>=Et) in Formel Ia

- 5 70.0 µl (500.0 µmol) Triethylamin werden in 250 µl abs. THF gelöst und mit Eiswasser auf 0°C gekühlt. Zu dieser Lösung werden 52.5 µl (400.0 µmol) Chlorameisensäuremethylester zugegeben. Nach ca. 5 min werden 25.0 µl (334.1 µmol) Propionsäure zugetropft und weitere 10–15 min gerührt. Anschließend wird auf Raumtemperatur erwärmt und der Niederschlag abzentrifugiert. 46.7 µl des Überstands werden in eine Lösung aus 13.2 mg (26.0 µmol) 21-Amino-Epothilon A in 250 µl abs. THF und 5.4 µl (39.0 µmol) Triethylamin gegeben. Nach 20 min wird der Rohansatz über PSC (Laufmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 90 : 10) gereinigt. Es wurden 11.2 mg (76%) 21-Amino-Epothilon A-propionamid erhalten.  
 10 <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.57 (bs, 17-H), 7.07 (s, 19-H), 2.28 (q, 2'-H<sub>2</sub>), 1.18 (3'-H<sub>3</sub>), 6.29 (t, NH); HRMS (EI): C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S: ber. 564.2869, gef. 564.2854.

## Synthese von 21-Acyloxy-Epothilonen 6

- 15 Beispiel: 21-Pentanoyloxy-Epothilan E (R=G<sup>1</sup>=G<sup>2</sup>=H, G<sup>3</sup>=O, G<sup>4</sup>=Z<sup>2</sup>C=O, Z<sup>2</sup>=n-Bu) in Formel Ia

Zu einer Lösung von 20 mg (39 µmol) Epothilon A-N-Oxid in 100 µl CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wurden 83.0 µl (419 µmol) Valeriansäureanhydrid und 20.0 µl (172 µmol) 2,6-Lutidin gegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 30 min bei 75°C gerührt, vom Lösungsmittel befreit und am Hochvakuum getrocknet. Die Reinigung des Rohprodukts mittels präparativer HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 50 : 50) ergab 9 mg (40%) Epothilon E-21-valerianat.  
 20 <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.60 (s, 17-H), 7.14 (s, 19-H), 5.35 (s, 21-H<sub>2</sub>), 3.62 (t, 2'-H<sub>2</sub>), 1.6–1.7 (m, 3'-H<sub>2</sub>); 1.3–1.4 (m, 4'-H<sub>2</sub>), 0.91 (t, 5'-H<sub>3</sub>). HRMS (EI): C<sub>31</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>8</sub>S: ber. 593.3022, gef. 593.3007.

- 25 Beispiel: 21-naphthoyloxy-Epothilon E (R=G<sup>1</sup>=G<sup>2</sup>=H, G<sup>3</sup>=O, G<sup>4</sup>=Z<sup>2</sup>C=O, Z<sup>2</sup>=Naph) in Formel Ia

21 mg (41 µmol) Epothilon A-N-Oxid wurden in 80 µl CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und mit 10 µl (86 µmol) 2,6-Lutidin und 82.0 µl (129 µmol) 2-Naphthoylchlorid-Lösung (300 mg/ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde 10 min bei 75°C gerührt. Das Rohgemisch wurde durch präparative HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: t-Butylmethylether/Hexan 1 : 2 mit 1% Methanol) gereinigt. Die Trennung lieferte 8 mg (29%) Epothilon E-21-naphthoylat.  
 30 <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.64 (s, 17-H), 7.19 (s, 19-H), 5.67 (s, 21-H<sub>2</sub>), 8.09 (dd, 3'-H), 7.96 (d, 4'-H); 7.89 (dd, 5'-H), 7.89 (dd, 6'-H), 7.58 (m, 7'-H), 7.58 (m, 8'-H), 8.67 (s, 9'-H); HRMS (DCT): C<sub>37</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>8</sub>S: [M<sup>+</sup>] ber. 663.2866, gef. 663.2877

- 35 Beispiel: 21-(3',6'-dioxaheptanoyl)-Epothilon E (R=G<sup>1</sup>=G<sup>2</sup>=H, G<sup>3</sup>=O, G<sup>4</sup>=Z<sup>2</sup>C=O, Z<sup>2</sup>=3',6'-Dioxahexyl)

100.0 µl (880.0 µmol) 2-(2-Methoxyethoxy)-essigsäure in 1.6 ml THF lösen. Anschließend werden 137.6 µl (880.0 µmol) 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid und 134.9 µl (968.0 µmol) Triethylamin zugegeben. Der Ansatz wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt, währenddessen sich ein farbloser Niederschlag bildet. Die Reaktionslösung wird zentrifugiert und 119.5 µl des Überstands werden zu einer Lösung von 23.2 mg (45.7 µmol) Epothilon E in 400 µl THF gegeben. Anschließend werden 8.4 mg (45.7 µmol) Dimethylaminopyridin zugegeben und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt über präparative HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: t-Butylmethylether/Hexan 1 : 2 + 2% Methanol). Es konnten 14.7 mg (52%) 21-(3',6'-dioxaheptanoyl)-Epothilan E isoliert werden.  
 40 <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.60 (bs, 17-II), 7.16 (s, 19-II), 5.42 (s, 21-II<sub>2</sub>), 4.52 (s, 2'-II<sub>2</sub>), 3.74 (m, 3'-II<sub>2</sub>), 3.58 (m, 4'-II<sub>2</sub>), 3.37 (s, 5'-H<sub>3</sub>); HRMS (DCT): C<sub>31</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>10</sub>S: [M+H<sup>+</sup>] ber. 626.2999, gef. 626.2975.

## Synthese von 21-Sulfonyloxy-*E*-pothilonen 6 und 21-Halogen-*E*-pothilonen 3

- 50 Beispiel: 21-Tosyloxy-Epothilon A und 21-Chlor-Epothilon A (R=G<sup>1</sup>=G<sup>2</sup>=H, G<sup>3</sup>=O, G<sup>4</sup>=Z<sup>2</sup>SO<sub>2</sub>, Z<sup>2</sup>=p-Toluoyl und R=G<sup>1</sup>=G<sup>2</sup>=H, G<sup>3</sup>=Cl) in Formel Ia bzw. Ib

23.0 mg (45.2 µmol) Epothilon E werden in 50 µl Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung werden nacheinander 54.4 mg (285.0 µmol) Tosylchlorid und 56.6 µl (333.0 µmol) Hünig-Base gegeben. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach einer Reinigung durch präparative HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: t-Butylmethylether/Hexan 1 : 2 + 1.5% Methanol) wurden 4.7 mg (16%) 21-Tosyloxy-Epothilon A und 16.2 mg (68%) 21-Chlor-Epothilon A erhalten.

- 55 21-Tosyloxy-Epothilon A:  
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.54 (bs, 17-II), 7.15 (s, 19-II), 5.29 (s, 21-II<sub>2</sub>), 7.82 (d, 2', 6'-II), 7.34 (dm, 3',5-II), 2.44 (s, 7'-H<sub>3</sub>).  
 60 21-Chlor-Epothilon A:  
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.59 (bs, 17-H), 7.16 (s, 19-H), 4.81 (s, 21-H<sub>2</sub>). HRMS (DCT): C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>6</sub>S: [M+H<sup>+</sup>] ber. 528.2187, gef. 528.2154.

## Synthese von substituierten Methylenderivaten 15

- 65 Beispiel: 20-(2-propenyl)-Epothilon A: (R=H, G<sup>6</sup>=G<sup>8</sup>=Z<sup>7</sup>=H, G<sup>7</sup>=CZ<sup>7</sup>) in Formel IIa

50.0 µg Instand-Ylid (Fa. Fluka) werden mit 17.0 µg Methylphosphoniumbromid versetzt und in 500 µl abs. THF

# DE 199 30 111 A 1

suspendiert. Der Ansatz wird für 2–3 min ins Ultraschallbad gestellt und anschließend bei Raumtemperatur gerührt. Hat die Reaktionslösung ein leuchtend gelbe Farbe, wird die Suspension in eine Lösung aus 15.2 mg (30.0 µmol) A-Aldehyd in 100 µl abs. THF getropft. Nach 1 h wird der Ansatz mit Wasser verdünnt und drei mal mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird eingeengt und am Hochvakuum getrocknet. Eine Trennung des Rohgemisches erfolgt über präparative HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: t-Butylmethylether/Hexan 1 : 2 + 1% Methanol). Es konnten 1.7 mg (11%) 21-Methylen-Epothilon A isoliert werden.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.59 (bs, 17-H), 7.04 (s, 19-H), 6.86 (dd, 21-H), 6.05 (d, 1'-Hb), 5.55 (d, 1'-Ha); HRMS (DCI): C<sub>27</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>6</sub>S: [M+H<sup>+</sup>] ber. 506.2576, gef. 506.2589.

## Synthese von Epothilon-20-carbaldehyde 13

10

### Beispiel: Epothilon A-21-aldehyd (G<sup>6</sup>=H, G<sup>9</sup>=O) in Formel IIb

Es wurden 58.0 mg (114 µmol) Epothilon E in 1 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst. In Abständen von 10 min wurden dreimal 295 mg (3.4 mmol) Braunstein zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 40 min wurde das Mangandioxid abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden zur Trockene gebracht und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: t-Butylmethylether/Hexan mit 3% Methanol) gereinigt. Es wurden 36 mg (62%) Epothilon A-21-aldehyd erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.67 (s, 17-H), 7.53 (s, 19-H), 9.98 (d, 21-H); HRMS (DCI): C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>7</sub>S: [M+H<sup>+</sup>] ber. 508.2369, gef. 508.2367.

15

### Beispiel: Epothilon A-20-carbonsäuremethylester (G<sup>6</sup>=OZ<sup>5</sup>, Z<sup>5</sup>=Me, G<sup>9</sup>=O) in Formel IIb

20

8.0 mg (16 µmol) Epothilon A-21-aldehyd wurden in 300 µl eines THF/Wasser-Gemisches (9 : 1) gelöst und mit 24.0 mg (194 µmol) Silber(I)-oxid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit 0.1% Salzsäure und einmal mit Wasser gewaschen und anschließend mit einem Überschuss an Diazomethan versetzt. Es wurde 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels, erfolgte eine Reinigung des Rohproduktes durch präparativer HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: t-Butylmethylether/Hexan 1 : 2 mit 1% Methanol), wobei 2.5 mg (30%) Epothilon A-21-carbonsäuremethylester erhalten wurden.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.73 (bs, 17-H), 7.42 (s, 19-H), 4.00 (s, 1'-H<sub>3</sub>), HRMS (DCI): C<sub>27</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>8</sub>S: [M+H<sup>+</sup>] ber. 537.2396, gef. 537.2408.

30

### Beispiel: Epothilon A-21-methylketon (G<sup>6</sup>=Me, G<sup>9</sup>=O) und 21-Epoxi-Epothilon

35

10 mg Epothilon A-21-aldehyd (19.7 µmol) werden in 200 µl CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst, mit einem Überschuss Diazomethan in Ether versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 15 min wird der Reaktionsansatz eingeengt und mittels PSC (Kieselgel 60, Laufmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Methanol 95 : 5) getrennt. Es wurden 4.5 mg (44%) 20-Acetyl-Epothilon A und 1.9 mg (19%) 21-Epoxi-Epothilon A erhalten.

40

#### 20-Acetyl-Epothilon A:

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.62 (bs, 17-H), 7.45 (s, 19-H), 2.71 (s, 1'-H<sub>3</sub>).

#### 20-Epoxi-ethyl-Epothilon:

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.58 (bs, 17-H), 7.09 (s, 19-H), 4.22 (t, 21-H), 3.00 (m, 1'-Ha), 3.23 (dd, 1'-Hb).

45

## Synthese von 21-Imino-Epothilonen 22

45

### Typisches Beispiel: Epothilon A-O-Methylcarbaldoxim (R=G<sup>6</sup>=H, G<sup>7</sup>=N, G<sup>8</sup>=OZ<sup>10</sup>, Z<sup>10</sup>=Me) in Formel IIa

Zu einer Lösung von 25 mg (49 µmol) Epothilon A-21-aldehyd in 200 µl Methanol wurden 10.0 µl (124 µmol) Pyridin und 113 µl (54.0 µmol) O-Methylhydroxylammoniumchlorid-Lösung (40 mg/ml) gegeben. Nach Röhren des Reaktionsansatzes für 1 h bei Raumtemperatur wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde einmal mit Wasser extrahiert und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels präparativer HPLC (Nucleosil 100, Laufmittel: t-Butylmethylether/Hexan 1 : 2 mit 1% Methanol). Es wurden 9 mg (36%) E- und 7 mg (27%) Z-Epothilon A-O-Methylcarbaloxim erhalten.

55

#### E-Epothilon A-O-Methylcarbaloxim:

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.61 (bs, 17-H), 7.12 (s, 19-H), 8.22 (s, 21-H), 4.01 (s, 1'-H<sub>3</sub>).

#### Z-Epothilon A-O-Methylcarbaloxim

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.65 (bs, 17-II), 7.36 (bs, 19-II), 7.86 (d, 21-II), 4.15 (s, 1'-H<sub>3</sub>).

HRMS (DCI): C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S: [M+H<sup>+</sup>] ber. 537.2634, gef. 537.2637.

Die Derivate 6' sind im Prinzip auch auf einem mehrstufigen Weg aus 2 erhältlich und in unserer früheren Deutschen Anmeldung 199 07 588.3 enthalten. Hier ist also nur das Verfahren neu.

60

Die Verbindungen zeigen wiederum hohe cytotoxische Aktivität gegen verschiedene Tumorzelllinien.

## Experimenteller Teil

65

Herstellung von IVn, IVb (R = H, R' = CH<sub>3</sub>): 102 mg (0.2 mmol) 2 werden in 2 ml Acetanhydrid gelöst und 5 min auf 75°C erwärmt. Anschließend wird bei 30°C/1 mbar zu einem viskosen Öl eingedampft und an Kieselgel Si60 Laufmittel Hexan/Methyl-tert-Butylether/Methanol 66 : 33 : 1) getrennt, wobei neben 65 mg (41%) 6', je 17 mg (11%) IVa und IVb

# DE 199 30 111 A 1

cluiert werden.

- IVa: farbloses Öl; DC:  $R_f = 0.66$  (Dichlormethan/Methanol 95 : 5); UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  ( $\epsilon$ ) = 203 (13800), 267 (13200), 315 nm (5000);  $[\alpha]_D^{25} = -185.1$  ( $c = 0.94$  in  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  1 : 1); IR (KBr):  $\nu = 3446, 2965, 2936, 2877, 1742, 1691 \text{ cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.43$  (dd,  $J = 14.8, 3.7$ , II-2a); 2.53 (dd,  $J = 14.8, 10.2$ , II-2b); 4.13 (m, 3-II); 3.33 (d,  $J = 6.4, 3\text{-OEt}$ ); 1.86 (dt,  $J = 15.0, 7.8$ , 14-Ha); 2.08 (m, 14-Hb); 5.39 (dd,  $J = 7.8, 2.2$ , 15-H); 6.23 (sbr, 17-H); 6.95 (s, 19-H); 5.18 (s, 21-Ha); 5.71 (sbr, 21-Hb); 2.26 (sbr, 27-H<sub>3</sub>); 2.12 (s,  $\text{CH}_3\text{CO}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 73.4$  (C-3); 52.8 (C-4); 151.5 (C-16); 116.0 (C-17); 158.0 (C-18); 88.7 (C-19); 166.9 (C-20); 107.2 (C-21); 20.7 (C-22); 170.2, 21.2 (Acetyl); HPLC/ESI-MS (Acetonitril/0.02 M Ammoniumacetat Puffer pH 7, pos. Ionen):  $m/z$  569 [ $\text{M}+\text{NH}_4^+$ ]. IVb: farbloses Öl; DC:  $R_f = 0.69$  (Bedingungen s. o.);  $[\alpha]_D^{25} = 119.6$  ( $c = 1.1$ ;  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  1 : 1);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1.90 (m, 14-Ha); 2.09 (m, 14-Hb); 5.42 (dd,  $J = 7.8, 2.2$ , 15-H); 6.92 (s, 19-H); 2.23 (s, 27-H<sub>3</sub>); 2.10 (s,  $\text{CH}_3\text{CO}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 150.8 (C-16); 116.5 (C-17); 17.2 (C-27); 170.3, 21.0 (Acetyl); 21-Methoxyepothilon A (6'a, R = H, Nu = OCH<sub>3</sub>): 14 mg (25  $\mu\text{mol}$ ) IVa oder IVb (R = H) werden in 1 ml Methanol 30 Minuten auf 75°C erwärmt, im Vakuum eingedampft und durch préparative HPLC (RP-18,  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  1 : 1) getrennt. Ausb. 2.5 mg (19%).
- 15 R<sub>f</sub> ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ): 0.33  
 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 4.71$  (s, 21-CH<sub>2</sub>); 3.49 (s, 21-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 59.1$  (OCH<sub>3</sub>); 71.5 (C-21); 167.8 (C-20); DCI-MS (i-Butan):  $m/z = 524.2609$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], für  $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{NO}_7\text{S}$  ber. 524.2604  
21-Thioethylepothilon B (6'b, R = CH<sub>3</sub>, Nu = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>S): 20 mg 2 (R = CH<sub>3</sub>) wurden mit Acetanhydrid in ein Gemisch von 6' und IV umgewandelt und i. V. zu einem Öl eingedampft. Dieses wurde in 100  $\mu\text{l}$  Ethylmercaptan gelöst und 1 h auf 20 105°C erhitzt. Anschließend wurde i. V. zur Trockene eingedampft und der Rückstand durch prép. DC (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 1 : 1) aufgetrennt.  
Ausb. 5 mg (25%).  
R<sub>f</sub> (Petrolether/Ethylacetat 1 : 1): 0.48  
 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.98$  (s, 21-CH<sub>2</sub>); 1.24, 2.60 (t, q, 21-SC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) (s, 21-OCH<sub>3</sub>); DCI-MS (i-Butan):  $m/z = 554$ .
- 25

## Biologische Charakterisierung der Epothilonederivate

### Cytostatische Aktivität

- 30 Die Epothilonederivate hemmen das Wachstum von Säugerzellkulturen, auch von Zelllinien, die gegen andere Cytostatika resistent sind.

35

40

45

50

55

60

65

DE 199 30 111 A 1

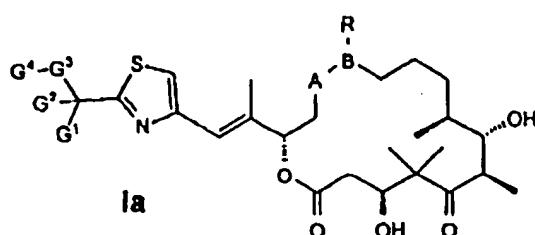
Wachstumshemmung transformierter Zellen der Maus und humander Karzinom- und Leukämie-Zelllinien

| Verbindung        | L929<br>Maus             | KB-3.1<br>Cervix | KB-V1*<br>Cervix | PC-3<br>Prostata | SK-OV-3<br>Ovar | A-549<br>Lunge | K-562/U-937<br>Leukämie |    |
|-------------------|--------------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|-------------------------|----|
|                   | IC <sub>50</sub> [ng/ml] |                  |                  |                  |                 |                |                         |    |
| 21-Chlor-epo A    | 170                      | 60               | 8                |                  |                 | 10             | 12 (K-562)              | 10 |
| Epo A-21-oxim     |                          | 7                |                  |                  |                 |                |                         |    |
| Epo A-21-hydrazen |                          | 12               |                  |                  |                 |                |                         | 15 |
| 21-Azido-epo A    |                          | 6                |                  |                  |                 |                |                         | 20 |
| 21-Amino-epo A    | 8                        | 4                | 30               | 3                | 4               |                | 3 (U-937)               | 25 |
| 21-Methylen-epo A | 3                        | 3                | 3                | 0,4              | 1               |                | 1,5 (U-937)             | 30 |
| 21-Azido-epo B    | 0,6                      | 0,5              | 0,5              | 0,4              |                 |                |                         | 35 |
| 21-Amino-epo B    | 0,5                      | 0,4              | 1,5              | 1,5              |                 |                |                         |    |

\*multiresistente Zelllinie

Patentansprüche

1. Verbindung der allgemeinen Formel Ia



worin bedeuten:

G1 ein H-Atom, einen Alkylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest oder ein Halogenatom, insbesondere ein Cl-, Br- oder I-Atom.

G2 ein H-Atom oder einen Alkylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest,

G3 ein O-Atom, ein S-Atom oder einen NZ1-Rest mit Z1 als einem H-Atom oder einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest, und

G4 ein H-Atom, ein Alkylrest, insbesondere ein C1-C4-Alkylrest,

ein OZ2-Rest, ein NZ2Z3-Rest, ein Z2C=O-Rest, ein Z4SO2'-Rest oder ein Glycosyl-Rest mit

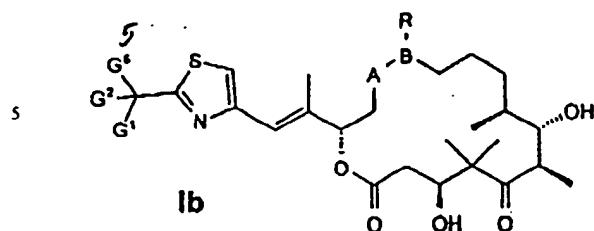
Z2 als einem H-Atom oder einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest, oder einen Naphthylrest,

Z3 als einem H-Atom oder einem Alkyl- oder Acylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylrest und

Z4 als einem CH3-, CF3- oder p-Toluoyl-Rest.

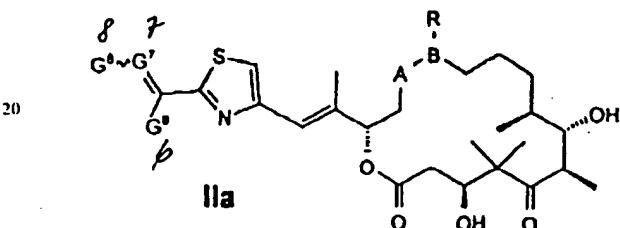
2. Verbindung der allgemeinen Formel Ib

DE 199 30 111 A 1



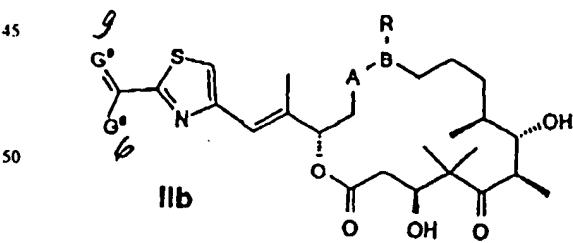
worin bedeuten:  
 G1 ein H-Atom, einen Alkylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest,  
 G2 ein H-Atom oder einen Alkylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest, und  
 G3 ein Halogenatomen, insbesondere ein Cl-, Br- oder I-Atom, einen N3-Rest oder einen NCS-Rest.

15 3. Verbindung der allgemeinen Formel IIa



worin bedeuten:  
 G6 ein H-Atom, einen Alkylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest, oder einen CF3-, OZ5-, SZ5- oder NZ5Z6-Rest mit  
 Z5 als einem H-Atom oder einem Alkyl- oder Acylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylrest und  
 Z6 als einem H-Atom oder einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest,  
 G7 ein CZ7-Rest oder ein N-Atom mit  
 Z7 als einem H- oder Halogen-Atom, insbesondere einem Cl-, Br- oder I-Atom, einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest, oder einem OZ8-, SZ8- oder NZ6Z9-Rest mit  
 Z8 als einem H-Atom oder einem Alkyl- oder Acylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylrest, und  
 Z9 als einem H-Atom oder einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest, und  
 G8 ein H- oder Halogen-Atom, insbesondere ein Cl-, Br- oder I-Atom, ein Alkylrest, insbesondere ein C1-C4-Alkylrest, oder ein OZ10-, SZ10- oder NZ10Z11-Rest mit  
 Z10 als einem H-Atom oder einem Alkyl- oder Acylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylrest, und  
 Z11 als einem H-Atom oder einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest.

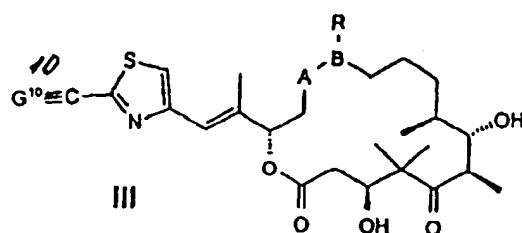
40 4. Verbindung der allgemeinen Formel IIb



worin bedeuten:  
 G6 ein H-Atom, ein Alkylrest, insbesondere ein C1-C4-Alkylrest, oder ein CF3-, OZ5-, SZ5- oder NZ5Z6-Rest mit  
 Z5 als einem H-Atom oder einem Alkyl- oder Acylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylrest, und  
 Z6 als einem H-Atom oder einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest, und  
 G9 ein O- oder S-Atom oder ein -N=N-Rest.

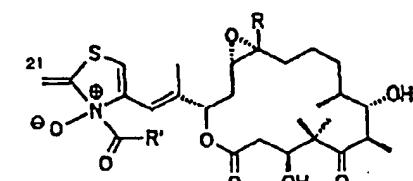
60 5. Verbindung der allgemeinen Formel III

DE 199 30 111 A 1



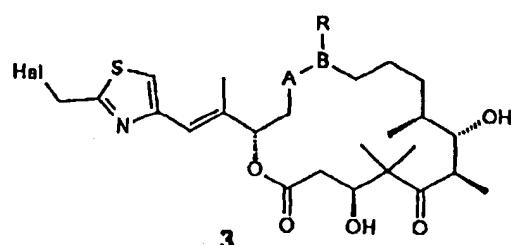
worin bedeutet:  
G10 ein N-Atom oder einen CZ12-Rest mit  
Z12 als einem H- oder Halogen-Atom, insbesondere einem Cl-, Br- oder I-Atom, oder einem Alkylrest, insbesondere einem C1-C4-Alkylrest.

6. Verbindung der allgemeinen Formel IV

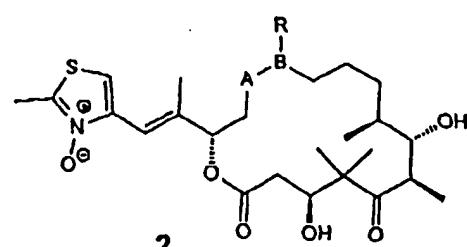


worin bedeutet:  
R ein H-Atom oder einen Methylrest und R' einen C<sub>1-4</sub>-Alkyl-, C<sub>1-4</sub>-Fluoralkyl-, C<sub>1-4</sub>-O-Alkyl-, H<sub>2</sub>N-, H(C<sub>1-4</sub>-Alkyl)N-, (C<sub>1-4</sub>-Alkyl)<sub>2</sub>N- oder Arylrest, insbesondere einen Phenylrest.

7. Verfahren zu Herstellung einer Verbindung der Formel 3,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 2



mit einem Säurehalogenid und einer Base zu einer Verbindung der Formel 3 umsetzt, wobei bedeuten:  
A-B = CH=C oder CH...C, wobei... eine C-C-Einfachbindung mit einer epoxidischen -O-Brücke bedeutet,  
R = H oder CH<sub>3</sub> und  
Hal = Cl, Br oder I.

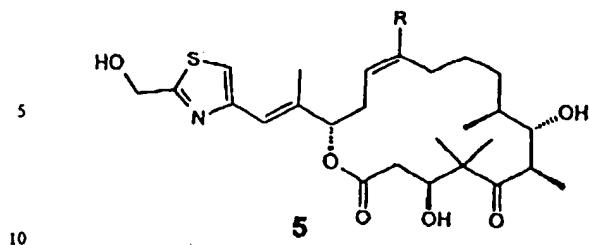
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß man mit p-Toluolsulfonsäure-halogenid und 2,6-Lutidin umsetzt.

9. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 5,

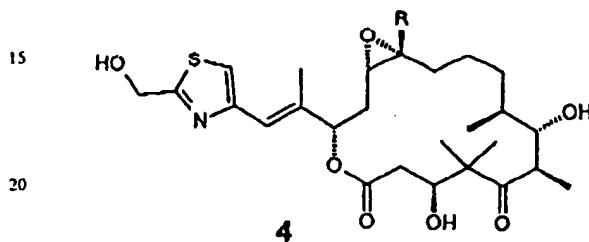
60

65

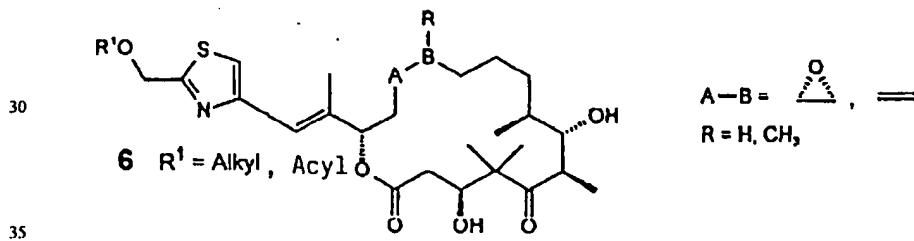
DE 199 30 111 A 1



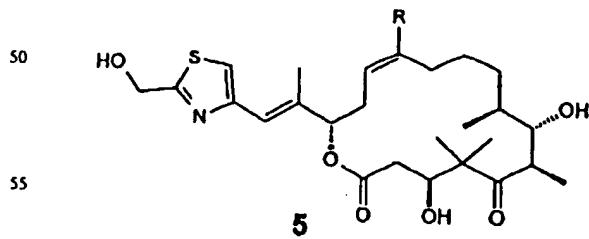
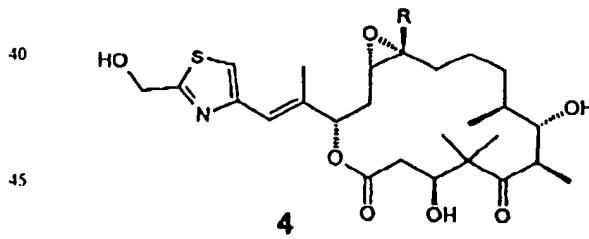
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 4



in an sich bekannter Weise zu einer Verbindung der Formel 5 desoxygeniert.  
10. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 6,



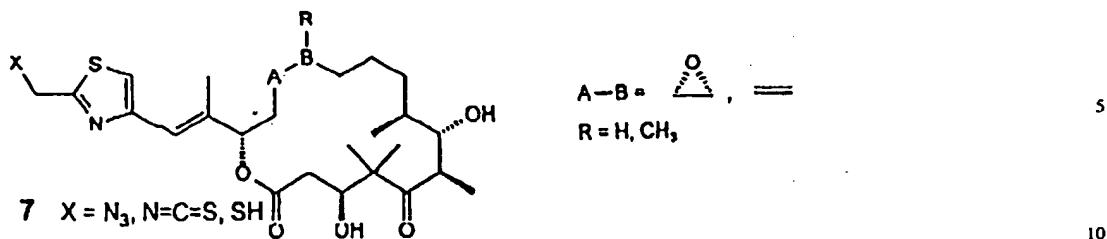
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 4 oder 5



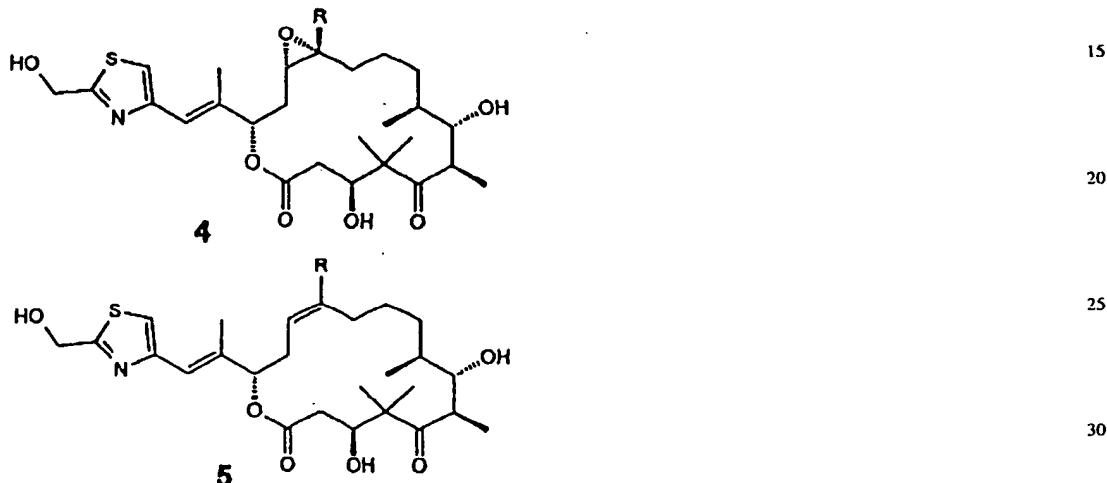
mit einer Verbindung der Formel  $R^1\text{Hal}$  und einer Base zu einer Verbindung der Formel 6 umsetzt, wobei A-B, R und Hal die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und  $R^1$  einen Alkyl- oder Acylrest bedeutet, insbesondere einen C1-C4-Alkyl- oder einen C1-C4-Acylrest.

11. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 7,

DE 199 30 111 A 1



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 4 oder 5

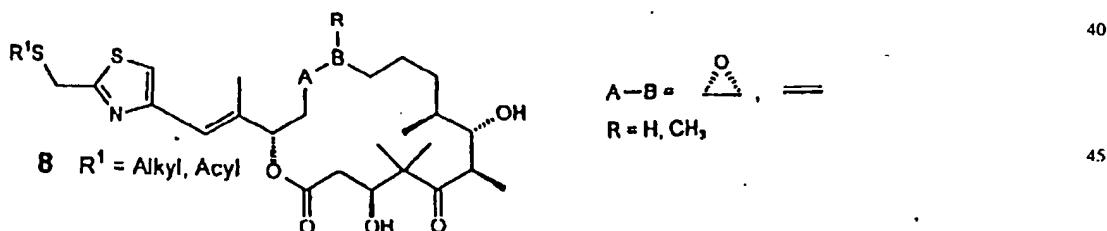


aktiviert und danach einer Substitution unterwirft und eine Verbindung der Formel 7 erhält, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und X N3, N=C=S oder SH bedeutet.

35

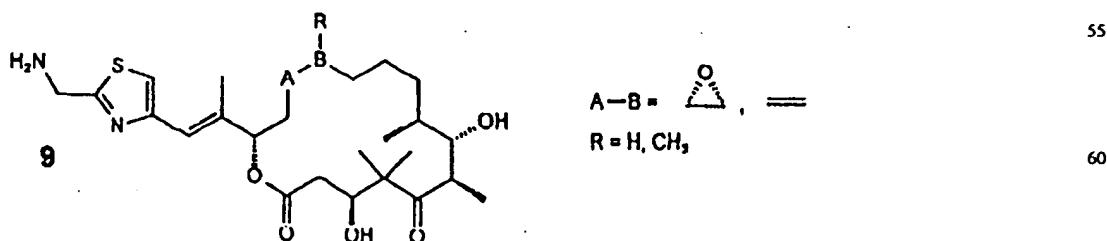
12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß man mit TosX ( $X = \text{Hal} = \text{Cl}, \text{Br}$  oder I) und Pyridin aktiviert und mit NaN3 substituiert.

13. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 8,



50

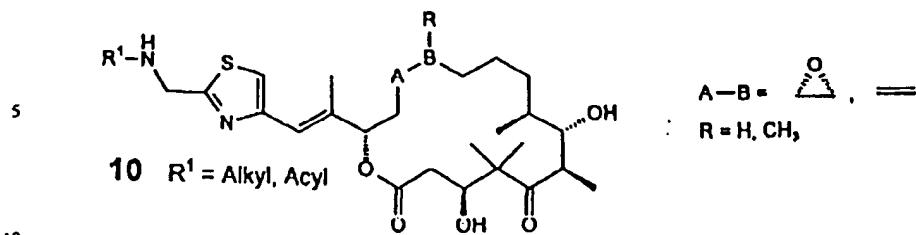
14. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 9,



65

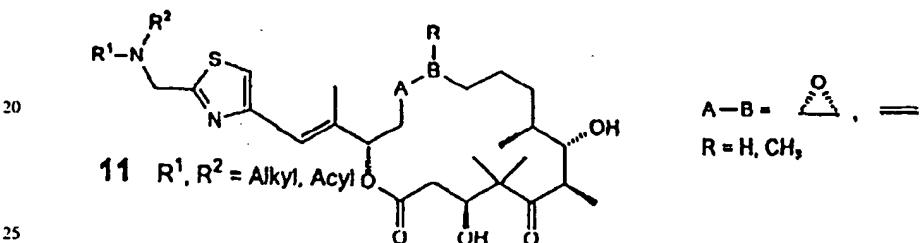
15. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 10,

DE 199 30 111 A 1



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 9 gemäß Anspruch 14 mit einer Verbindung der Formel RIHal und einer Base zu einer Verbindung der Formel 10 umsetzt, wobei A-B, R und Hal die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 einen Alkyl- oder Acylrest bedeutet, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest oder C1-C4-Acylrest.

15 16. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 11,

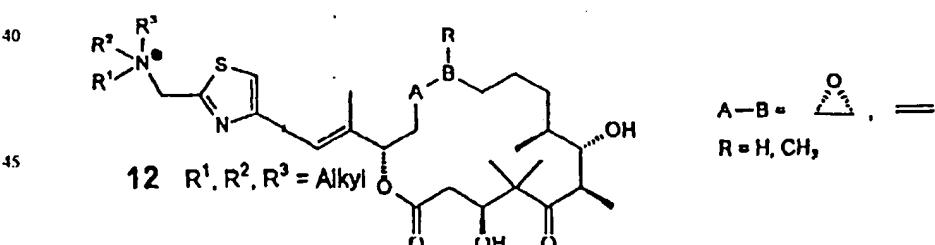


dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 9 gemäß Anspruch 14 mit

- einer Verbindung der Formel RIHal, bei der R1 einen Alkyl- oder Acylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylrest, oder mit
- einer Verbindung der Formel RIIHal und einer Verbindung der Formel R2IIal, bei der R1 und R2 jeweils einen Alkyl- oder Acylrest bedeuten, insbesondere einen C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylrest, oder mit
- einer Verbindung der Formel RIHal, in der R1 einen Alkylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest bedeutet, und mit einer Verbindung der Formel R2Hal, in der R1 einen Alkylrest, insbesondere einen C1-C4-Acylrest bedeutet,

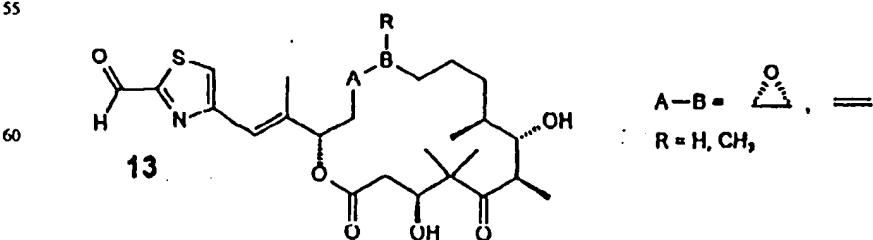
35 und einer Base zu einer Verbindung der Formel 11 umsetzt, wobei A-B, R und Hal die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 und R2 jeweils einen Alkyl- oder Acylrest, insbesondere einen C1-C4-Alkyl- oder einen C1-C4-Acylrest bedeuten.

35 17. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 12,



50 dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 9 gemäß Anspruch 14 mit einer Verbindung der Formel RIHal und einer Base zu einer Verbindung der Formel 12 umsetzt, wobei A-B, R und Hal die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1, R2 und R3, die gleich oder verschieden sein können, eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe bedeuten.

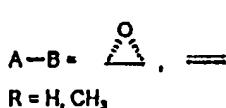
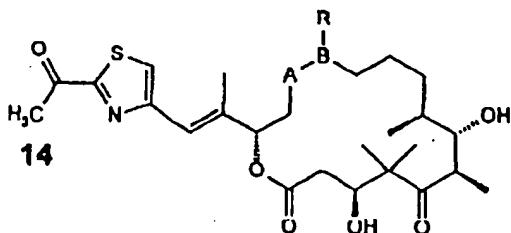
55 18. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 13,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 4 oder 5 mit Mangandioxid zu einer Verbindung der Formel 13 oxidiert, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

65 19. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 14,

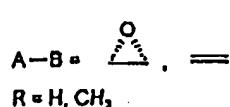
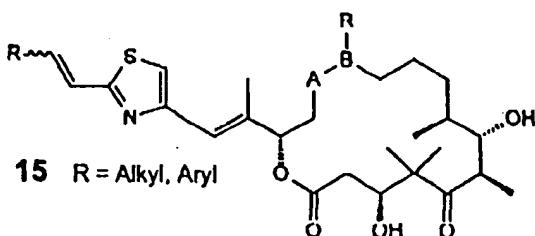
DE 199 30 111 A 1



5

dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> in eine Verbindung der Formel 14 überführt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

20. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 15,

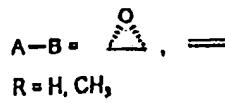
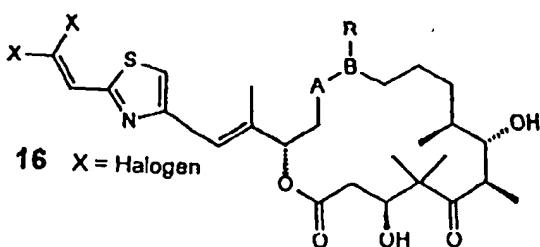


15

20

dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit Hilfe einer Wittig-Reaktion oder einer analogen Reaktion in eine Verbindung der Formel 15 überführt, wobei A-B und R am C12-Atom die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R am C21-Substituenten eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe oder einen Arylrest bedeutet, insbesondere einen Phenylrest.

21. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 16,

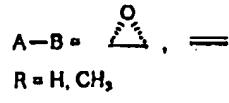
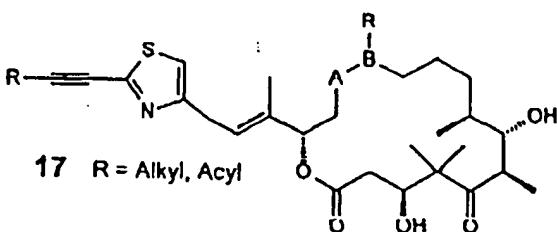


35

40

dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit CrCl<sub>2</sub> und einer Verbindung der Formel CHX<sub>3</sub> zu einer Verbindung der Formel 16 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und X = Hal (Halogen) Cl, Br oder I bedeutet.

22. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 17,



50

55

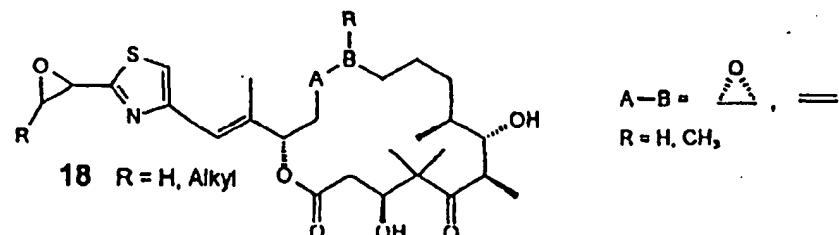
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 16 gemäß Anspruch 21 mit BuLi und einer Verbindung der Formel RX, worin X Cl, Br oder I bedeutet, zu einer Verbindung der Formel 17 umsetzt, wobei A-B und R am C12-Atom die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R in der Formel RX und am C21-Substituenten einen Alkyl- oder Acylrest bedeutet, insbesondere einen C1-C4-Alkyl- oder einen C1-C4-Acylrest.

23. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 18,

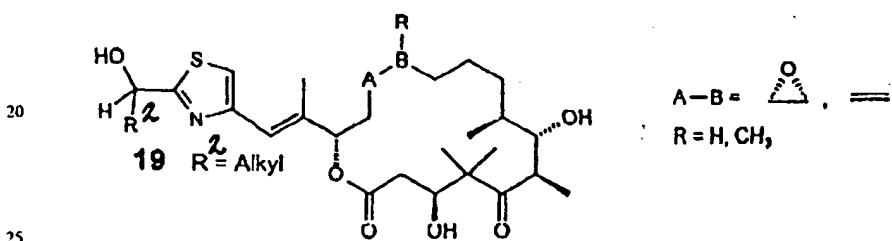
60

65

DE 199 30 111 A 1

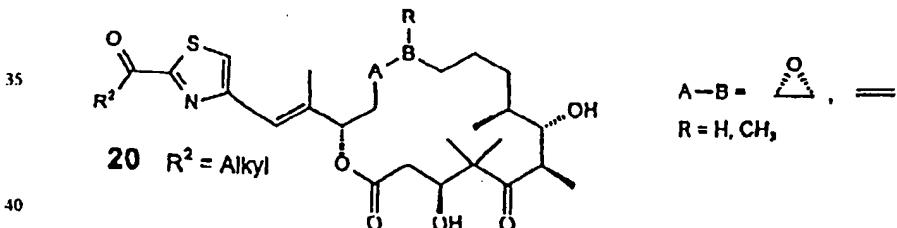


dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit  $(CH_3)_2SOCH_2$  zu einer Verbindung der Formel 18 umsetzt, wobei A-B und R am C12-Atom die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R am C21-Substituenten ein H-Atom oder eine Alkylgruppe bedeutet, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe.



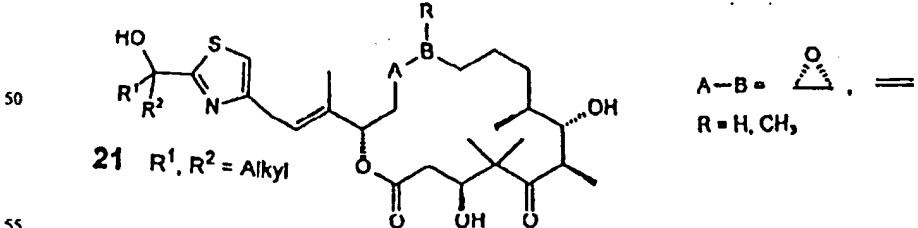
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit einer Verbindung der Formel R2MgX oder R2Li zu einer Verbindung der Formel 19 umsetzt, wobei A-B und R am C12-Atom die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R2 einen Alkylrest bedeutet, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest oder einen CF<sub>3</sub>-Rest.

## 25. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 20,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 19 gemäß Anspruch 24 mit Mangandioxid zu einer Verbindung der Formel 20 oxidiert, wobei A-B die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R2 einen Alkylrest bedeutet, insbesondere einen C1-C4-Alkylrest oder einen CF3-Rest.

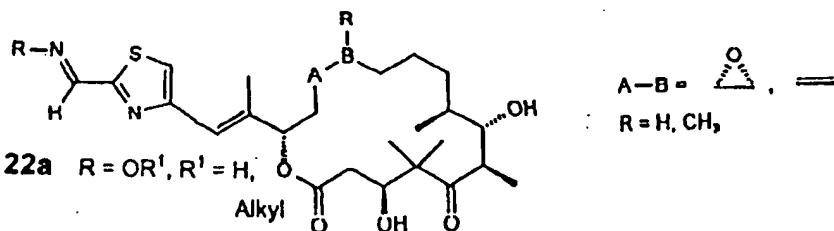
45 26. Versfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 21.



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 20 genäß Anspruch 25 mit Hilfe einer Verbindung der Formel R1MgX oder R1Li zu einer Verbindung der Formel 21 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen, R2 die Bedeutung genäß Anspruch 25 besitzt und R1 der Verbindungen der Formeln R1MgX und R1Li und am C21-Substituenten jeweils eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe, und X Cl, Br oder I bedeuten.

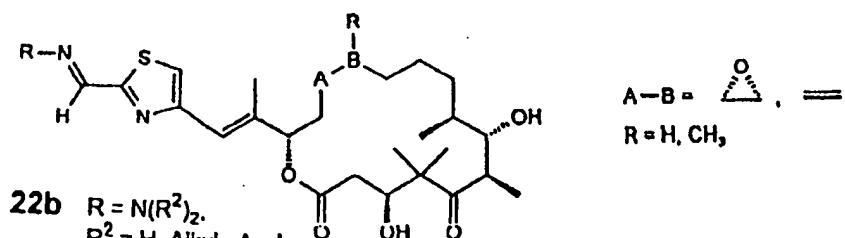
## 27. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 22a,

DE 199 30 111 A 1



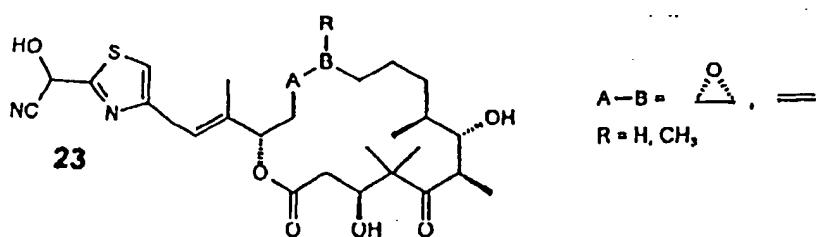
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit einer Verbindung der Formel H<sub>2</sub>NR zu einer Verbindung der Formel 22a umsetzt, wobei A-B und R des C12-Atoms die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R der Verbindung der Formel H<sub>2</sub>NR und am C21-Substituenten OR<sup>1</sup> bedeutet, wobei R<sup>1</sup> ein H-Atom oder eine Alkylgruppe bedeutet, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe.

28. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 22b,



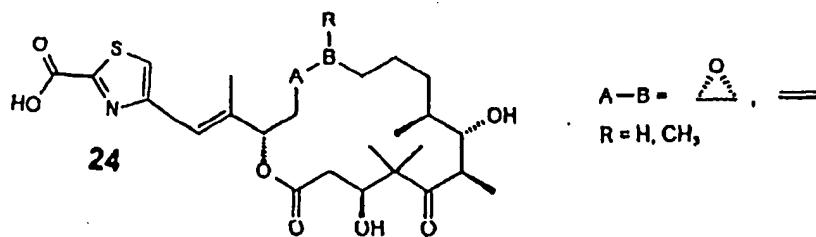
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit einer Verbindung der Formel H<sub>2</sub>NR zu einer Verbindung der Formel 22b umsetzt, wobei A-B und R am C12-Atom die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R der Verbindung der Formel H<sub>2</sub>NR und am C21-Substituenten N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub> bedeutet, wobei R<sup>2</sup> ein H-Atom oder eine Alkyl- oder eine Acylgruppe bedeutet, insbesondere eine C1-C4-Alkyl- oder eine C1-C4-Acylgruppe.

29. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 23,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit HCN zu einer Verbindung der Formel 23 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

30. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 24,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 13 gemäß Anspruch 18 mit Ag<sub>2</sub>O, vorzugsweise in einem TfIF/H<sub>2</sub>O-Gemisch, insbesondere im Verhältnis von ca. 9 : 1, zu einer Verbindung der Formel 24 oxidiert, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

31. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 25,

5

10

15

20

25

30

35

40

45

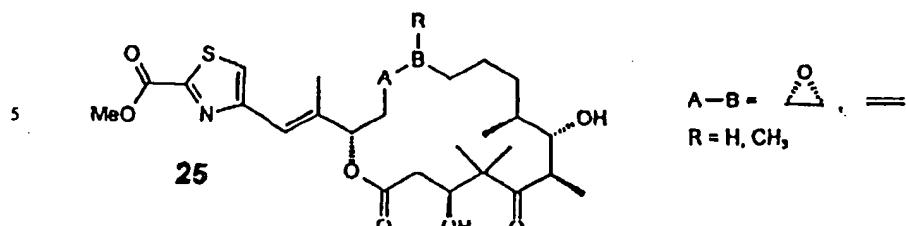
50

55

60

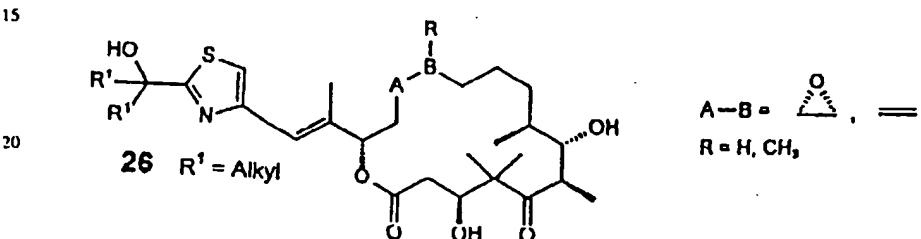
65

DE 199 30 111 A 1



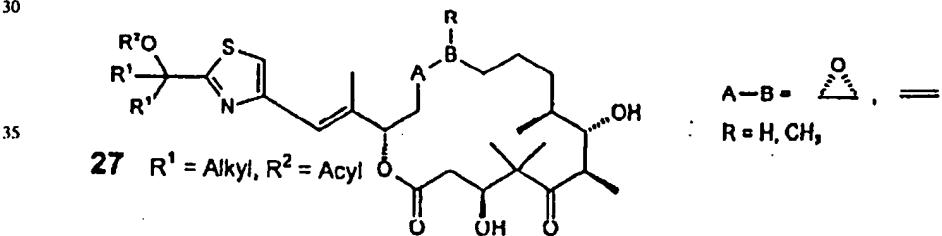
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 24 gemäß Anspruch 30 mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$ , vorzugsweise in Ethylacetat, zu einer Verbindung der Formel 25 methyliert, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

### 3.2. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 26.



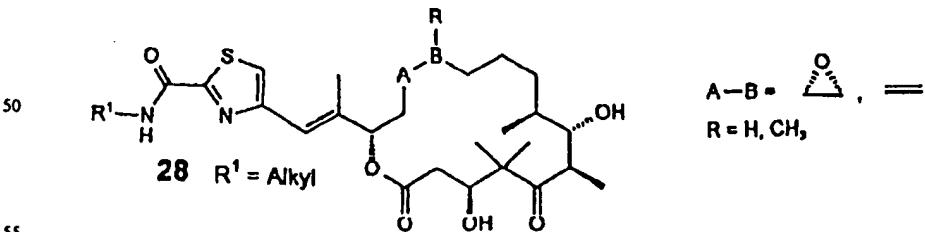
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 25 gemäß Anspruch 31 mit xs (Überschuß) R1MgHal zu einer Verbindung der Formel 26 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe, und Hal Cl, Br oder I bedeuten.

### 33. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 27,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 26 gemäß Anspruch 32, mit einer Verbindung der Formel R2Hal und einer Base zu einer Verbindung der Formel 27 acyliert, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe, R2 eine Acylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Acylgruppe, und Hal Cl, Br oder I bedeuten.

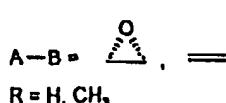
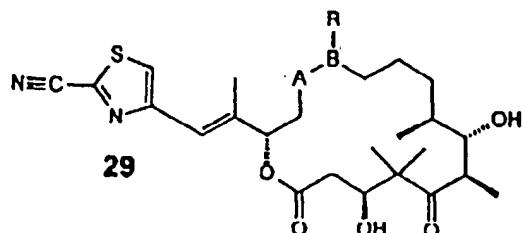
### 45 34. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 28,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 24 gemäß Anspruch 30, mit R1NH<sub>2</sub>, Chlorformiat und (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N, vorzugsweise in THF, zu einer Verbindung der Formel 28 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 eine Alkylgruppe bedeutet, insbesondere eine C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylgruppe.

### 35. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 29.

DE 199 30 111 A 1

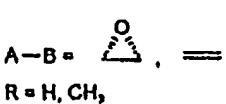
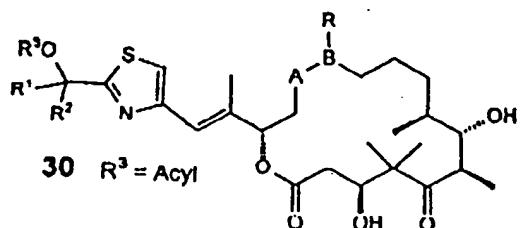


5

10

dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 28 gemäß Anspruch 34 mit P4O10 zu einer Verbindung der Formel 29 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

36. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 30,

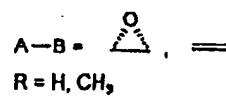
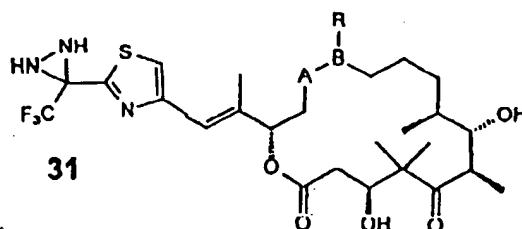


15

20

dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 21 gemäß Anspruch 26 mit einer Verbindung der Formel R3X ( $RCOX$  mit  $R = \text{Alkyl-}$  und insbesondere C1-C4-Alkylgruppe) und einer Base zu einer Verbindung der Formel 30 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 und R2 jeweils eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe, und R3 eine Acylgruppe bedeuten, insbesondere eine C1-C4-Acylgruppe.

37. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 31,

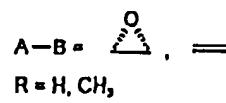
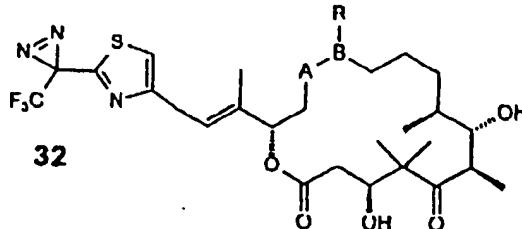


30

35

dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 20 gemäß Anspruch 25 (i) mit  $H_2NOpTos$  und danach (ii) in flüssigem Ammoniak zu einer Verbindung der Formel 31 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R2 eine ClF3-Gruppe bedeutet.

38. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 32,

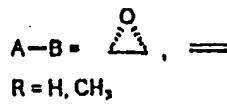
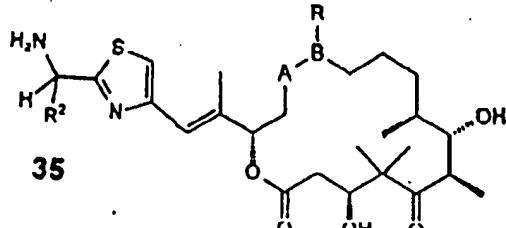


45

50

dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 31 gemäß Anspruch 37 mit Ag20 zu einer Verbindung der Formel 32 umsetzt, wo bei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

39. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 35,



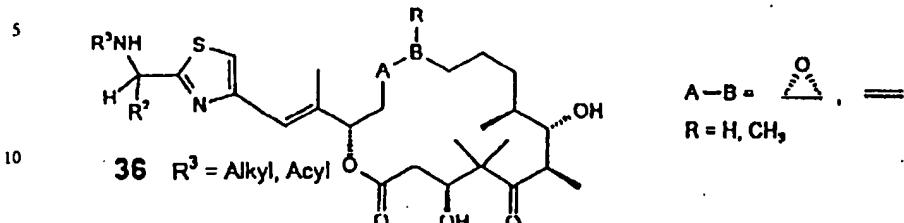
60

65

DE 199 30 111 A 1

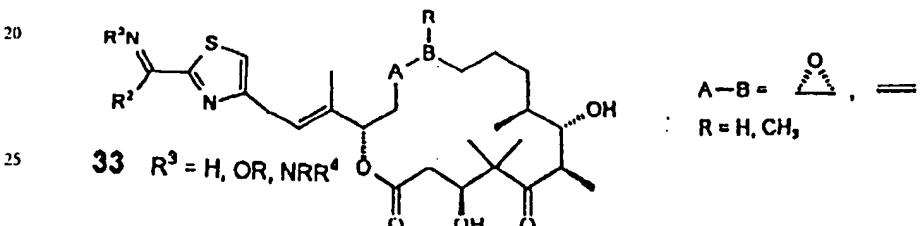
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 20 gemäß Anspruch 25 in an sich bekannter Weise einer reduktiven Aminierung unterwirft, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen.

#### 40. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 36,



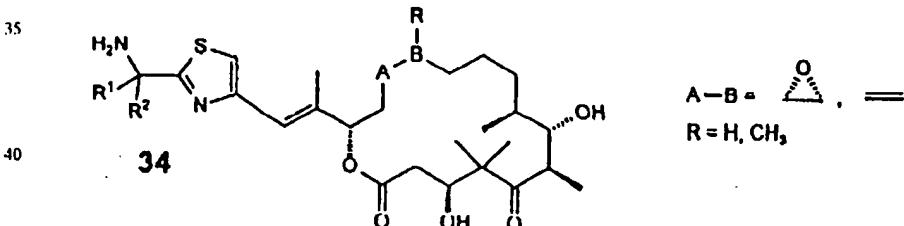
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 35 gemäß Anspruch 39 mit einer Verbindung der Formel R3X und einer Base zu einer Verbindung der Formel 36 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R3 eine Alkyl- oder eine Acylgruppe bedeutet, insbesondere eine C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylgruppe.

#### 41. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 33,



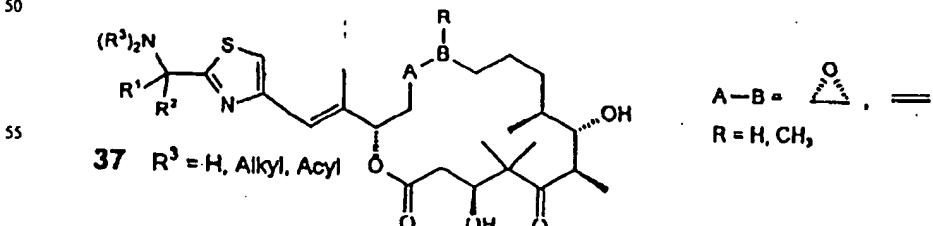
dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 20 gemäß Anspruch 25 mit einer Verbindung der Formel II2NR3 zu einer Verbindung der Formel 33 umsetzt, wobei A-B und R am C12-Atom die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R3 ein H-Atom, eine RO-Gruppe oder eine R4RN-Gruppe bedeutet und R und R4 jeweils eine Alkylgruppe bedeuten, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe.

## 42. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 34,



dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 33 gemäß Anspruch 41 mit R1MgX und gegebenenfalls R2MgX oder mit R1Li und gegebenenfalls R2Li zu einer Verbindung der Formel 34 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 und R2 jeweils eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe, und X Cl, Br oder I bedeuten.

#### 43. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 37,

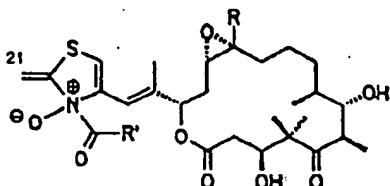


60 dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 34 genäß Anspruch 42 mit einer Verbindung der Formel R3X und einer Base zu einer Verbindung der Formel 37 umsetzt, wobei A-B und R die Bedeutungen gemäß Anspruch 7 besitzen und R1 und R2 jeweils eine Alkylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkylgruppe, R3 ein H-Atom oder eine Alkyl- oder Acylgruppe, insbesondere eine C1-C4-Alkyl- oder C1-C4-Acylgruppe, und X Cl, Br oder I bedeuten, wobei in der Formel 37 mindestens einer der Reste R3 kein H-Atom ist.

65 44. Verfahren zur Herstellung einer der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 7 bis 43, dadurch gekennzeichnet, daß man die Verbindung ausgehend von einer ihrer Vorstufen gemäß den Ansprüchen 7 bis 42 herstellt.

#### 45. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der allgemeinen Formel IV

DE 199 30 111 A 1

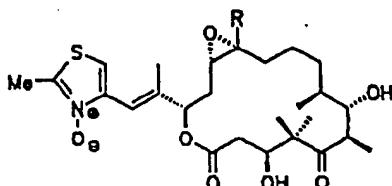


IV

5

10

wobei R und R' die Bedeutungen gemäß Anspruch 6 besitzen, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 2



15

20

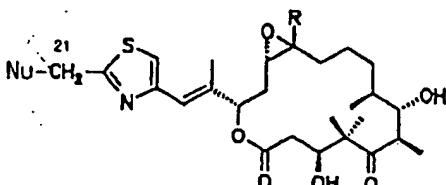
25

wobei bedeuten:

A-B = CH...C, wobei... eine C-C-Einfachbindung mit einer epoxidischen -O-Brücke bedeutet; und  
R = H oder CH<sub>3</sub>,

mit einer Verbindung der Formel (R'CO)<sub>2</sub>O, wobei R' einen C<sub>1-4</sub>-Alkyl-, C<sub>1-4</sub>-Fluoralkyl-, C<sub>1-4</sub>-O-Alkyl-, H<sub>2</sub>N-, II (C<sub>1-4</sub>-Alkyl) N-, (C<sub>1-4</sub>-Alkyl)<sub>2</sub>N- oder Arylrest, insbesondere einen Phenylrest bedeutet, umgesetzt, insbesondere bei erhöhter Temperatur, und die Verbindung der allgemeinen Formel IV gewinnt.

46. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel 6'



35

40

6'

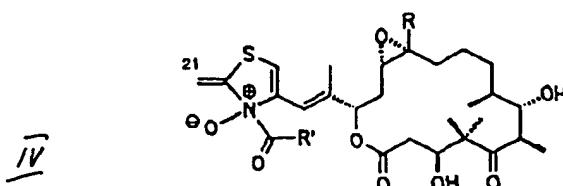
45

wobei bedeuten:

R ein H-Atom oder einen Methylrest,

A-B = CH...C, wobei... eine C-C-Einfachbindung mit einer epoxidischen -O-Brücke bedeutet; und  
Nu (Rest eines Nuklesophilen Nu-H) einen Kohlenstoff-, Stickstoff-, Sauerstoff- oder Halogensubstituenten, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel IV,

50



55

worin R und R' die Bedeutungen gemäß Anspruch 6 besitzen, mit einem Nukleophil der Formel Nu-H, worin Nu die vorstehend angegebenen Bedeutungen besitzt, umgesetzt und die Verbindung der Formel 6' gewinnt.

60

47. Verfahren nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, daß man für die Umsetzung eine Verbindung der Formel IV und ein Nukleophil der Formel Nu-H wählt, mit denen man eine Verbindung der Formel 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11 oder 12 gemäß einem der Ansprüche 7, 10, 11, 13, 14, 15, 16 bzw. 17 erhält.

65

48. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 47, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Epothilon der Formel 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 oder 37 oder IV einsetzt, das in 3- oder 7-Stellung geschützt ist, insbesondere mit einer Silylgruppe.

49. Antifungisches Mittel, enthaltend oder bestehend aus einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 neben einem fakultativen Träger, Verdünnungsmittel oder Hilfsstoff.

# DE 199 30 111 A 1

50. Therapeutisches Mittel zur Behandlung von Tumorerkrankungen und Zellwachstumsstörungen, enthaltend oder bestehend aus einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 neben einem fakultativen Träger, Verdünnungsmittel oder Hilfsstoff.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**